

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学 号: 21720061152197

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

Nicastrin 与 THAP7 的相互作用

Interaction between Nicastrin and THAP7

易艳琼

指导教师姓名: 许华曦 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2009 年 4 月

论文答辩时间: 2009 年 5 月

学位授予日期: 2009 年

答辩委员会主席:

评 阅 人:

年 月

Nicastatin 和 THAP7 的相互作用

厦门大学

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):  
年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

## 摘 要

阿尔茨海默氏病(Alzheimer's disease, AD)是一种渐进性神经退行性疾病,在AD患者脑内有两个明显的组织病理学特征:即细胞内神经原纤维缠结(Neurofibrillary Tangle, NFT)和细胞外的淀粉样斑(Senile Plaque, SP)。SPs中含有大量的 $\beta$ -淀粉样蛋白(beta-Amyloid protein,  $A\beta$ )。 $A\beta$ 是淀粉样前体蛋白(APP)经过 $\beta$ -和 $\gamma$ -分泌酶连续切割产生的,而Nicastrin(NCT)是 $\gamma$ -分泌酶复合体的重要组成成分之一。最近的研究表明它在 $\gamma$ -分泌酶的组装和成熟中扮演重要的角色,它调节 $\gamma$ -分泌酶复合体其他组分的稳定、转运等过程,同时它作为 $\gamma$ -分泌酶底物结合位点,赋予了 $\gamma$ -分泌酶广泛的底物特异性。

为了进一步认识和了解NCT的生物学功能,以及它在阿尔茨海默症发病过程中的作用,我们实验室以NCT蛋白胞内端的686—709氨基酸为诱饵蛋白,通过酵母双杂交方法在人胎脑cDNA文库进行筛选,鉴定出一个在酵母中能够与NCT相互作用的蛋白,THAP7,其具有能够与染色质和组蛋白相结合,抑制基因转录的作用。

在本课题中我们通过GST pull-down 试验和免疫共沉淀实验证实NCT和THAP7在体外和哺乳动物细胞内都能发生相互作用。在293swedish细胞中过度表达THAP7能够使NCT的mRNA水平降低,但却引起NCT和 $\gamma$ -分泌酶其它组分的蛋白水平增加。而过度表达THAP7也可以使 $A\beta$ 和sAPP $\alpha$ 分泌都增加,同时使APP CTFs水平增加。我们在N2a/695细胞中也得到相似的结果。

这些结果说明THAP7在调节NCT的过程中可能具有双重功能:在细胞核内,THAP7作为转录抑制因子参与了NCT的转录抑制;在细胞质内,THAP7和NCT相互作用并稳定了NCT,导致 $\gamma$ -分泌酶其它组分的蛋白水平增加,因此提高了 $\gamma$ -分泌酶的活性,产生更多的 $A\beta$ 。这些研究提供了一个调节NCT和 $\gamma$ -分泌酶活性的靶点,并且阐明THAP7除了转录抑制以外还有其它的功能。

关键词: 阿尔茨海默症; Nicastrin;  $A\beta$ ; THAP7

## Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by neurofibrillary tangle (NFT) and senile plaque (SP) pathologies in the brain of patients. Senile plaques are composed of  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) peptides.  $A\beta$  is derived from its precursor protein APP through sequential cleavages by  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretases. Nicastrin (NCT) is one important component of the  $\gamma$ -secretase complex that is responsible for the generation of  $A\beta$ . Recent studies demonstrated that NCT plays a vital role in the assembly and maturation of the  $\gamma$ -secretase and modulates the stability and trafficking of the other components of the  $\gamma$ -secretase complex. Meanwhile NCT has been suggested to serve as the substrate-binding subunit of  $\gamma$ -secretase, providing an explanation for specificity in  $\gamma$ -secretase proteolysis in the absence of sequence similarity.

To further elucidate the biological function of NCT and the role of NCT during the pathogenesis of Alzheimer Disease, we utilized yeast two-hybrid system to identify cytosolic NCT-interacting proteins. Using the NCT carboxyl terminus (C<sub>686-709</sub>) as the bait peptide, we have screened the human fetal brain cDNA library and identified THAP7, a chromatin-associated protein that may repress transcription.

In the present study, we confirmed the interaction between NCT and THAP7 in vitro and in cells by using GST pull-down assay and co-immunoprecipitation in HEK 293T cells. Moreover, we found that overexpression of THAP7 dramatically decreased the mRNA level of NCT, but increased the protein level of NCT and the other components of the  $\gamma$ -secretase. Overexpression of THAP7 also dramatically increased the secretion of  $A\beta$  and sAPP $\alpha$ , as well as the levels of APP CTFs.

Our data suggest that THAP7 plays dual roles on modulating NCT: in nucleus, THAP7 acts as a transcriptional inhibitory factor and inhibits gene transcription of NCT; whereas in cytoplasm, THAP7 interacts with and stabilizes NCT, leading to increased levels of other  $\gamma$ -secretase components and thus elevated  $\gamma$ -secretase activity for more  $A\beta$  generation. These studies provide a new target for modulating NCT and the  $\gamma$ -secretase activity, and elucidate additional functions of THAP7 besides its involvement in repression of gene transcription.

Keywords: Alzheimer's disease; Nicastrin;  $A\beta$ ; THAP7

## 目 录

<b>第一章 前言</b>	1
<b>第一节 阿尔茨海默症</b>	1
1.1 阿尔茨海默症概述	1
1.2 阿尔茨海默症病理特征	1
1.3 阿尔茨海默症的发病机制的 $\beta$ -淀粉样蛋白级联假说	3
<b>第二节 <math>\beta</math>-淀粉样蛋白的生成及参与 <math>\beta</math>-淀粉样蛋白生成的酶</b>	4
2.1 $\alpha$ -分泌酶	5
2.2 $\beta$ -分泌酶	5
2.3 $\gamma$ -分泌酶	5
<b>第三节 Nicastrin 的研究进展</b>	9
3.1 NCT 的分子结构特点	9
3.2 NCT 的蛋白修饰、转运和降解	9
3.3 Nicastrin 与 $\gamma$ -分泌酶	11
3.4 NCT 的功能	12
<b>第四节 THAP7 的研究现状</b>	14
4.1 THAP7 的分子结构特点	14
4.2 THAP7 的功能	15
<b>第五节 本文研究的内容和意义</b>	16
<b>第二章 材料与方法</b>	17
1 材料	17
2 仪器	22
3 实验方法	23
<b>第三章 结果与分析</b>	34
<b>3.1 GST pull-down 试验验证 NCT 和 THAP7 在体外可以相互作用</b>	34
3.1.1 THAP7 cDNA 全长的构建	34
3.1.2 pCMV5 -HA-THAP7 的表达	35

3.1.3	pGEX-4T-1-GST-NCT 质粒的构建	35
3.1.4	pGEX-4T-1-GST-NCT 融合蛋白的诱导表达	36
3.1.5	GST pull-down 试验验证 NCT 和 THAP7 在体外可以相互作用	36
3.2	通过免疫共沉淀实验进一步验证在哺乳动物细胞中 NCT 和 THAP7 存在相互作用	37
3.2.1	pcDNA3.1-Nicastrin-myc 质粒的构建	37
3.2.2	pcDNA3.1-Nicastrin-myc 的表达	38
3.2.3	免疫共沉淀实验验证 pcDNA3.1-NCT-myc 和 pCMV5-HA-THAP7 在哺乳动物细胞中存在相互作用	38
3.3	THAP7过度表达对NCT和APP加工途径的影响	40
3.3.1	THAP7 过度表达降低 NCT 的 mRNA 水平	40
3.3.2	THAP7蛋白的过度表达能够增加细胞内NCT和 $\gamma$ -分泌酶其它组分的蛋白水平	41
3.3.3	THAP7 蛋白的过度表达能够增加 A $\beta$ 分泌	41
3.3.4	THAP7 蛋白的过度表达能够使 sAPP $\alpha$ 分泌和 $\beta$ CTFs 增加	42
3.3.5	在 N2a /695 细胞中过度表达 THAP 7 与其在 293swedish 细胞中过度表达具有相似的效应	43
第四章讨论与展望		45
参考文献		47
附录		52



## Table of Contents

<b>Chapter 1 Introduction</b>	1
<b>Part I Alzheimer's disease</b>	1
1.1 Alzheimer's Disease overview	1
1.2 Pathological characters of Alzheimer's disease	1
1.3 $\beta$ -amyloid cascades hypothesis	3
<b>Part II The formation of <math>\beta</math>-amyloid and the enzymes involves this process</b>	
2.1 $\alpha$ -secretase	5
2.2 $\beta$ -secretase	5
2.3 $\gamma$ -secretase	5
<b>Part III Advancements in Nicastrin research</b>	9
3.1 Structure characters of Nicastrin	9
3.2 Post-translational modification 、trafficking and degradation of Nicastrin	9
3.3 The relationship of Nicastrin and $\gamma$ -secretase	11
3.4 Fuction of Nicastrin	12
<b>Part IV The present research of THAP7</b>	14
4.1 Structure characters of THAP7	14
4.2 Fuction of THAP7	15
<b>Part V Purposes and significance of our research</b>	16
<b>Chapter 2 Materials and methods</b>	17
1 Materials	17
2 Equipments	22
3 Methods	23
<b>Chapter 3 Results and analysis</b>	34
<b>3.1 GST pull-down assay proved the interaction between Nicastrin and THAP7 <i>in vitro</i></b>	34
3.1.1 The construction of pCMV5-HA-THAP7	34
3.1.2 The expression of pCMV5-HA-THAP7	35
3.1.3 The construction of pGEX-4T-1-GST-NCT	35
3.1.4 The expression of pGEX-4T-1-GST-NCT	36

---

3.1.5 GST pull-down assay proved the interaction between Nicastrin and THAP7 <i>in vitro</i> .....	36
<b>3.2 co-IP experiments confirmed the interaction between NCT and THAP7 in cells .....</b>	<b>37</b>
3.2.1 The construction of pcDNA3.1-Nicastrin-myc.....	37
3.2.1 The expression of pcDNA3.1-Nicastrin-myc.....	38
3.2.3 co-IP experiments confirmed the interaction between NCT and THAP7 in cells.....	38
<b>3.3 The effect of overexpression of THAP7 on Nicastrin and the processing of APP.....</b>	<b>40</b>
3.3.1 Overexpression of THAP7 decreased the mRNA of NCT.....	40
3.3.2 Overexpression of THAP7 increased the protein level of Nicastrin and other components of $\gamma$ -secretase.....	41
3.3.3 Overexpression of THAP7 increased A $\beta$ Secretion.....	41
3.3.4 Overexpression of THAP7 increased sAPP $\alpha$ Secretion and CTFs.....	42
3.3.5 The same effects of THAP7 overexpression in N2a/695 cell line with 293 Swedish cells.....	43
<b>Chapter 4 Discussion and prospect.....</b>	<b>45</b>
<b>References.....</b>	<b>47</b>
<b>Appendices.....</b>	<b>52</b>

## 英文缩略词

英文缩写	英文全名	中文名称
AD	Alzheimer's disease	老年痴呆症；阿尔茨海默氏症
AICD	APP intracellular domain	APP 被 $\gamma$ -分泌酶切割后产生的胞内结构域
APH-1	anterior pharynx-defective 1	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
$\beta$ APP	beta-amyloid precursor protein	$\beta$ -淀粉样前体蛋白
A $\beta$	beta-amyloid	$\beta$ -淀粉样蛋白
BACE	beta-site APP cleaving enzyme	$\beta$ -分泌酶
CTF	C-terminal fragments	羧基末端片段
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	
ER	Endoplasmic Reticulum	内质网
FAD	Familial Alzheimer's disease	家族性老年痴呆症
HDAC 3	Histone deacetylase 3	组蛋白去乙酰化酶 3
NCT	Nicastrin	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
NFTs	Neurofibrillar tangles	神经元纤维缠结
NICD	Notch intracellular domain	Notch 被 $\gamma$ -分泌酶切割后产生胞内结构域
NCoR	Nuclear Hormone Receptor Corepressor	核激素受体辅阻遏物
NTF	N-terminal fragments	氨基末端片段
PEN-2	Presenilin enhancer 2	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
PS	Presenilin	早老素
SAD	sporadic AD	散发的 AD
SP	Senile plaques	老年斑
TACE	tumor necrosis factor- $\alpha$	$\alpha$ 肿瘤坏死因子
TAFI $\beta$	Template -activating factor-I beta	$\beta$ - I 型模板激活因子
TGN	trans-Golgi network	反式高尔基体网络
THAP	Thanatos-associated protein	死亡相关蛋白
THAP7	THAP domain-containing protein 7	

## 第一章 前言

### 第一节 阿尔茨海默症

#### 1. 1 阿尔茨海默症概述

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, 简称 AD)又称老年性痴呆, 是一种与年龄相关的中枢神经系统退行性疾病, 由德国神经病理学家 Alois Alzheimer 在 1907 年首次发现并报道<sup>[1]</sup>。到了 1910 年, 人们为纪念他对阿尔茨海默症的贡献, 以他的名字命名了该疾病。

阿尔茨海默症是老年人群中最常见的一种痴呆类型, 65 岁人群中发病率大约为 10%, 而 85 岁以上人群中这一比例可高达 50%<sup>[2]</sup>, 患者表现出记忆减退, 认知障碍, 人格改变等症状。

临床研究表明 AD 可分为多见的、散发的 AD(sporadic AD, SAD)及少数(约占 15%~20%)有家族遗传史的家族性 AD(familial AD, FAD)。早年发病的类型只占 2%~7%的比例, 通常是由遗传性基因突变所引起<sup>[3]</sup>; 常见的散发类型影响 65 岁以上的老年人, 其发病率随年龄的增长而增高。Jorm 等分析了 7 个有关 AD 的流行病学调查后发现在 65 岁以上人群中 AD 发病率每隔 4 年半就要加倍<sup>[4]</sup>。女性发病率约为男性的一倍, 可能是由于女性的寿命比男性长, 但女性性别亦可能是一个危险因素<sup>[5]</sup>。

随着世界人口老龄化问题的加剧, 目前全世界的 AD 患者至少有 2500 万以上, 并且仍有不断上升的趋势, 预计到 2020 年全世界将有 4200 万人患上这种疾病, 2040 年患病人数将进一步攀升至 8100 万<sup>[6]</sup>。这一疾病不仅给患者带来巨大的痛苦, 也给家人、社会造成较大的精神和经济负担。因此, 世界各国正在积极研究 AD 的病因和治療措施, 然而遗憾的是, 到目前为止, 人们还没有确切了解其发病机制, 也没有行之有效的预防措施和治療手段。

#### 1. 2 阿尔茨海默症的病理特征

AD 患者的病理改变主要发生在前脑基底、海马和大脑皮层。细胞外的老年斑(senile plaques, SP)和细胞内神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NTFs)是患者脑内的两大主要异常结构(如图 1)。其它病理特征还包括脑皮质普遍萎缩、突触及神经元的丢失、神经细胞内颗粒空泡样变性、双螺旋纤维(paired helical filaments, PHFs)增多、淀粉样物质沉积脑血管(amyloid-laden cerebral vessels)等

[7]。

大量的研究表明 SPs 中含有  $\beta$  淀粉样蛋白 (beta-Amyloid protein,  $A\beta$ )、tau 蛋白、载脂蛋白 E (ApoE) 等<sup>[8]</sup>, 其中  $A\beta$  起了重要的病理作用。 $\beta$ -淀粉蛋白分子量约 4kD, 有两种主要存在形式, 分别由 40 和 42 个氨基酸组成, 即  $A\beta_{40}$  和  $A\beta_{42}$ , 分泌的  $A\beta$  中, 大约 90% 是  $A\beta_{40}$ , 其它 10% 是  $A\beta_{42}$ <sup>[9]</sup>。其中  $A\beta_{42}$  更易聚合, 较早地有选择性地形成沉淀<sup>[10]</sup>, 也更具有致病性。 $A\beta$  具有细胞毒性, 在体外用  $A\beta$  处理细胞, 以及将  $A\beta$  注射到老鼠的大脑中都会引起细胞死亡, 因此  $A\beta$  的过量生成被认为是导致 AD 的一个主要原因<sup>[11-13]</sup>。

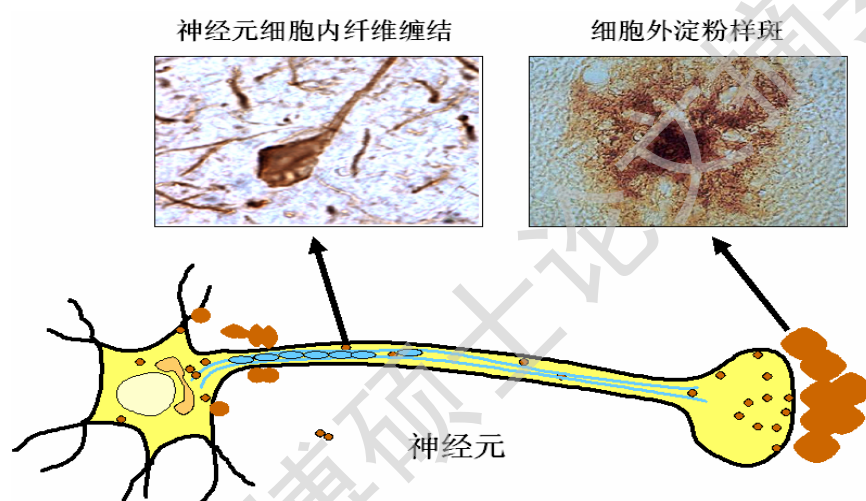


图 1-1. AD 的两个重要病理学特征 (摘自分子细胞生物学, 张云武等著.2006)

Figure 1-1. Two pathologic characteristics of AD

神经纤维缠结 (NFT) 主要是由过度磷酸化的微管结合蛋白 tau (Microtubule-associated tau) 形成的。微管是神经细胞中参与胞体与轴突营养输送的通道, 是细胞骨架的重要组分, 由微管蛋白和微管结合蛋白 (MAP) 组成, tau 蛋白是 MAP 的主要成分。

正常的 tau 磷酸化是细胞所必需的。但当 tau 被过度磷酸化时便丧失了催化微管装配和稳定微管结构的正常功能。一方面, 这些过度磷酸化的 tau 可以被降解。另一方面, 过度磷酸化的 tau 更易于聚合, 在细胞内形成不可溶的纤维缠结, 从而损害了神经元细胞的正常生理学功能, 造成神经疾病<sup>[14]</sup>。

在神经退行性疾病和动物模型脑中, 所有细胞内沉积的 tau 均以异常过度磷酸化的形式存在; 并且过度磷酸化的发生早于其聚集成 NFT<sup>[15]</sup>。早期的过度磷酸化的 tau 蛋白沉积导致神经元活性受抑制, 可能影响记忆功能<sup>[16]</sup>。这些研究表

明，tau 的异常过度磷酸化在 AD 形成中可能发挥重要作用

### 1.3 阿尔茨海默症的发病机制的 $\beta$ -淀粉样蛋白级联假说

阿尔茨海默病的发病机制至今仍不清楚。目前研究认为是内在原因（如遗传背景）和外在因素（如环境条件）相互作用的结果。揭示 AD 发病的启动因子是阐明其发病机制的关键。自德国医生阿尔茨海默（Alzheimer）于 1907 年首次报道该病以来<sup>[1]</sup>，已经提出了各种基于实验数据的假说，主要包括淀粉样蛋白级联假说、 $A\beta$  离子通道假说、氧自由基损伤假说，胆碱能假说以及钙代谢紊乱假说等。其中比较公认是淀粉样蛋白级联假说<sup>[17]</sup>（如图 1-2）。这种假说认为由于年龄、唐氏综合症、APP、PS-1、PS-2 突变等危险因子，使得神经细胞内的  $A\beta$  水平提高，这样一方面使分泌到细胞外  $A\beta$  的  $A\beta$  增加，形成淀粉样斑，老年斑能够导致小神经胶质细胞和星型细胞激活、引起氧化损伤以及 tau 蛋白聚集和磷酸化，并最终引起神经细胞功能障碍和死亡，导致 AD 的形成。另一方面细胞内  $A\beta$  的积累使得突触和神经细胞功能丧失，接着引起突触和神经细胞的死亡，进一步导致脑区的营养不良，最后出现痴呆和其它临床症状。

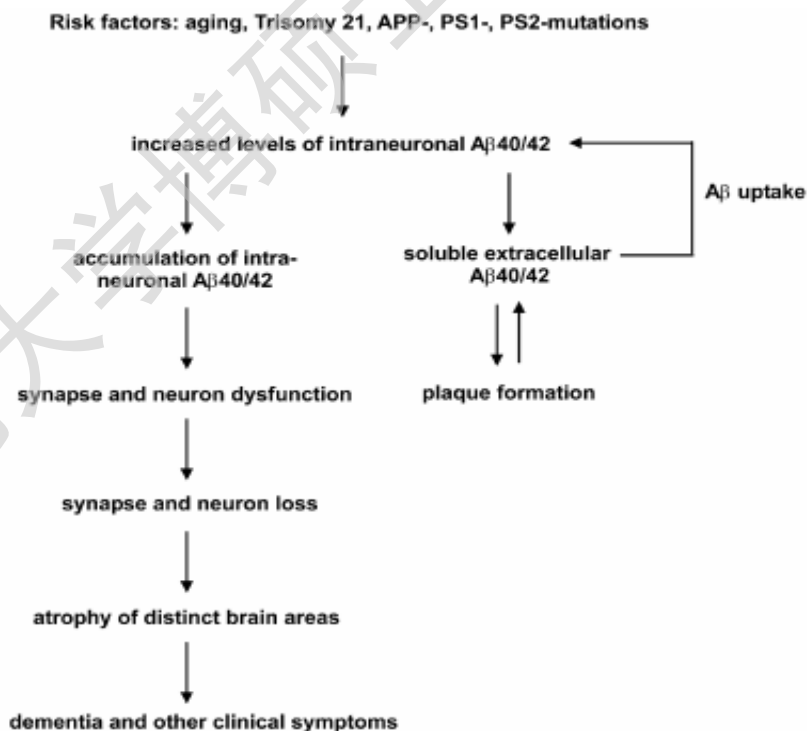


图 1-2 淀粉样蛋白级联假说（Oliver Wirths *et al.* J Neurochem, 2004.）

Figure 1-2  $\beta$ -amyloid hypothesis

## 第二节 $\beta$ -淀粉样蛋白的生成及参与 $\beta$ -淀粉样蛋白生成的酶

$A\beta$  是由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经蛋白酶水解产生的。

APP 相对分子量为 110~135kD, 是一种 I 型跨膜蛋白, 包括 N 端 17 个氨基酸残基组成的信号肽, 一个胞外结构域, 单个跨膜螺旋区和一个短的胞内区组成。 $A\beta$  区域一部分位于 APP 的膜外区, 一部分位于跨膜区<sup>[18]</sup>。APP 存在多种剪切形式, 其中  $\beta$ APP751 和  $\beta$ APP770 在身体各部分广泛表达; 而另一种主要剪切形式  $\beta$ APP695 在神经元中高表达, 在非神经元细胞中丰度很低<sup>[19]</sup>。

APP 在体内有两条代谢途径, 如图 1-3 所示, 在非淀粉样产生途径中,  $\alpha$ -分泌酶在 APP 的  $A\beta$  区域内部的第 17 位氨基酸切割, 剪切生成可溶性的具有神经保护功能的 sAPP $\alpha$  和 83 个氨基酸的羧基端 C83 片段, C83 在膜内进一步被  $\gamma$ -分泌酶剪切生成 p3 片段和 AICD, 该途径不产生  $A\beta$  分子。在淀粉样产生途径中, APP 的胞外区首先被  $\beta$ -分泌酶 (在  $A\beta$  分子的第 1 位或者 11 位) 剪切, 释放 sAPP $\beta$  和 99 个氨基酸的羧基端 C99 片段, C99 再进一步被  $\gamma$ -分泌酶在膜双分子层内剪切, 产生  $A\beta_{39-43}$  和 AICD。其中,  $A\beta_{40}$  和  $A\beta_{42}$  容易在脆弱的脑区形成淀粉样沉积<sup>[20]</sup>。

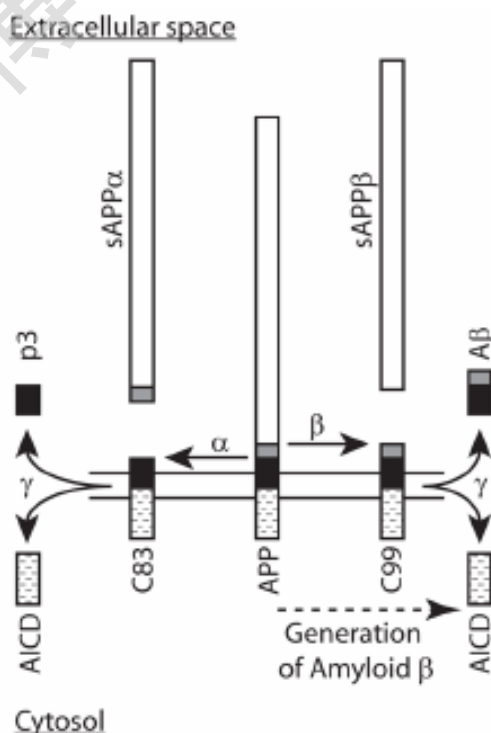


图1-3 APP的加工 (Daniel R. Dries *et al.* Curr Alzheimer Res, 2008. )

Figure 1-3 APP processing

## 2.1 $\alpha$ -分泌酶

$\alpha$ -分泌酶的活性主要集中在细胞膜上。 $\beta$ APP在细胞膜上被 $\alpha$ -分泌酶水解后,其胞外可溶性片段sAPP $\alpha$ 直接分泌到细胞外间质。sAPP $\alpha$ 具有神经保护和增强记忆的功能<sup>[21]</sup>。由于 $\alpha$ -分泌酶的切割位点位于A $\beta$ 的16和17氨基酸之间,因此 $\alpha$ CTF进一步被 $\gamma$ -分泌酶水解所生成的p3片段不具有致病性<sup>[22]</sup>。通过对不同蛋白酶抑制剂对sAPP $\alpha$ 生成影响的研究表明, $\alpha$ -分泌酶是一种锌金属蛋白酶(metalloprotease)<sup>[23]</sup>。Adamalysin蛋白家族的几个成员,如 $\alpha$ 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TACE, 或ADAM17),以及ADAM10, ADAM9等,都具有 $\alpha$ -分泌酶的特性<sup>[21]</sup>。最近的研究提示 $\alpha$ -分泌酶的活性可能不仅是来自于单个蛋白,而且是来自于几个蛋白的共同作用。运用过度表达和RNAi技术发现在人的成胶质细胞瘤(glioblastoma)细胞中, TACE, ADAM10和ADAM9都在相似程度上参与了 $\alpha$ -分泌酶对 $\beta$ APP的水解<sup>[21]</sup>。

实验发现上调 $\alpha$ -分泌酶活性不仅可以增加的sAPP $\alpha$ 的分泌,而且可以相应地降低神经毒性A $\beta$ 的产生。因此以下观点似乎是合理的:(1)遗传或环境因素下调 $\alpha$ -分泌酶活性可能加快AD的发展;(2)药物刺激 $\alpha$ -分泌酶的活性是AD中一个潜在的干涉治疗策略。蕈毒碱激活剂、降胆固醇药物、固醇类激素和非固醇类抗炎药物以及金属离子都可以上调 $\alpha$ -分泌酶的活性,这可能部分解释了这些药物在AD治疗中的效应<sup>[21]</sup>。

## 2.2 $\beta$ -分泌酶

$\beta$ -分泌酶(也称 BACE)是 I 型跨膜天冬氨酸蛋白酶,在其细胞器腔内部分含有两个活性位点,每个都包括天冬氨酸蛋白酶的标记序列 DT/SGT/S<sup>[24]</sup>。BACE 位于酸性的细胞器如胞内体(endosome), 反式高尔基体网络(trans-Golgi network, TGN)等<sup>[25]</sup>。纯化的 BACE 在酸性条件下活力最大<sup>[26]</sup>。此外在细胞中过度表达 BACE 会增加 $\beta$ APP的 $\beta$ CTF,降低sAPP $\alpha$ 的分泌。在一些自发性AD中发现BACE的活性增加。最近在转基因小鼠研究中发现,将 BACE 完全敲除后,这些转基因小鼠没有 A $\beta$  产生,但小鼠仍然健康存活,表型正常<sup>[27,28]</sup>。这一结果为通过抑制 BACE 的活性来降低 A $\beta$ , 从而为治疗 AD 提供了直接的动物模型证据。现在这方面的挑战来自于寻找只针对 BACE 的小分子抑制剂。

## 2.3 $\gamma$ -分泌酶



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库